

## Formulasi Media Tumbuh *Acetobacter xylinum* Dari Bahan Limbah Cair Tempe dan Air Kelapa Untuk Produksi Nata De Soyacoco

Muhammad Alwi<sup>1)</sup>, Andi Lindhemuthianingrum<sup>2)</sup>, dan Umrah<sup>3)</sup>

<sup>1), 3)</sup> Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Tadulako, Palu Sulawesi Tengah 94117

<sup>2)</sup> Alumni Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Tadulako

E.mail: [alwimillang@yahoo.co.id](mailto:alwimillang@yahoo.co.id)

### ABSTRACT

The impact of tempeh liquid-waste (Limbah Cair Tempe, LCT) as Contaminant has become a serious environmental problem. This study was design as an alternative problem solving related to that issue. Combination of tempeh liquid-waste and coconut water (Air Kelapa, AK) can be utilized as a medium of nata de soyacoco production. This research was aimed to obtain the best medium formulation for *Acetobacter xylinum* in order to produce the bacterial cellulose. This experiment was arranged in completely randomized design with 6 treatments and 3 replications. The treatments were P<sub>0</sub> (LCT 0% + AK 0%), P<sub>1</sub> (LCT 0% + AK 100%), P<sub>2</sub> (LCT 25% + AK 75%), P<sub>3</sub> (LCT 50% + AK 50%), P<sub>4</sub> (LCT 75% + AK 25%), and P<sub>5</sub> (LCT 100% + AK 0%). Parameters observed in this experiment were the days appear of nata, thickness, fresh weight, rendement and texture of nata which tested organoleptically. The best medium formulation for nata de soyacoco production was P<sub>4</sub> (LCT 75% + AK 25%), which resulted 1.04 cm thickness, 139.48 gram fresh weight, 42.27% rendement and 1.7 of texture value.

*Key words: tempeh liquid water, coconut water, Acetobacter xylinum.*

### PENDAHULUAN

Pemanfaatan air kelapa merupakan suatu cara untuk mengoptimalkan pemanfaatan buah kelapa. Terlebih lagi Sulawesi Tengah merupakan salah satu sentra penghasil buah kelapa terbesar di Indonesia. Menurut data BKPM (2010), Sulawesi Tengah menghasilkan 206.396 ton buah kelapa tiap tahunnya dengan bahan ikutan sebesar 61.918 ton air kelapa. Produksi kelapa yang berlimpah tiap tahunnya sangat perlu didukung dengan adanya pemanfaatan yang juga maksimal.

Fermentasi bakteri *A. xylinum* pada media tumbuh air kelapa atau

Nata de Coco merupakan produk Nata yang telah dikenal masyarakat secara umum. Dengan proses fermentasi yang serupa, akan dicoba memanfaatkan air kelapa dengan penambahan limbah cair tempe sebagai media pertumbuhan bakteri *A. xylinum*.

Limbah cair tempe merupakan produk buangan dari proses pengolahan tempe. Diperkirakan untuk industri skala rumah tangga, limbah cair yang dihasilkan sebesar 200-300 liter per hari dari pengolahan 300 kg kedelai. Sampai saat ini limbah tersebut dibuang ke lingkungan sehingga akan menimbulkan pencemaran.

Pemanfaatan limbah cair hasil buangan industri tempe dapat mengurangi

dampak pencemaran lingkungan yang ditimbulkan. Terlebih lagi limbah cair tempe masih kaya akan nutrisi seperti protein sebesar 40-60%, karbohidrat sebesar 25-50%, dan bahan-bahan lain yang dapat dimanfaatkan dan diolah (Sugiharto, 1994). Namun sayangnya pemanfaatannya belum banyak diusahakan terutama di Sulawesi Tengah. Melalui penerapan bioteknologi sederhana dengan bantuan bakteri *A. xylinum*, diharapkan dapat memaksimalkan pemanfaatan bahan baku air kelapa yang berlimpah sekaligus merupakan suatu alternatif penanganan limbah yang akan memberikan nilai tambah pada limbah yang terbuang tersebut.

Nata atau selulosa bakteri merupakan salah satu produk pangan di Indonesia dengan kualitas beragam. Keunggulan dari produk selulosa yang dihasilkan oleh bakteri *A. xylinum* bila dibandingkan dengan selulosa tumbuhan adalah tingkat kemurnian yang tinggi, kristalinitas, kekuatan mekanik, kapasitas menyerap air besar, dan mudah terurai.

Berdasarkan keunggulan selulosa bakteri tersebut maka di negara maju, produk selulosa bakteri atau Nata bukan hanya dimanfaatkan sebagai produk pangan melainkan dikembangkan untuk beberapa keperluan yaitu bahan baku industri, sebagai membran ultrafiltrasi, dan lain-lain. Karena itulah penelitian ini dilakukan untuk menemukan formulasi media tumbuh *A. xylinum* untuk produksi nata de soyacoco yang dapat dikembangkan baik sebagai bahan pangan maupun keperluan lainnya.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formulasi media tumbuh *A. xylinum* dengan menggunakan bahan LCT dan AK dalam proses produksi nata serta mengetahui kualitas nata yang dihasilkan.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah fermentasi, panci, kain saring, timbangan analitik, kompor, autoklaf, oven, gelas ukur, pH meter, mistar, garpu. Bahan yang digunakan adalah biakan murni *A. xylinum* berumur 7 hari yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Dasar Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tadulako, limbah cair tempe yang diperoleh dari perusahaan Tempe di Palu, air kelapa, sukrosa, asam asetat glasial, urea, dan bahan dasar.

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini di desain dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL), sebanyak 6 perlakuan dengan 4 kali ulangan. Adapun susunan perlakuan yaitu P<sub>0</sub> (LCT 0% + AK 0%), P<sub>1</sub> (LCT 0% + AK 100%), P<sub>2</sub> (LCT 25% + AK 75%), P<sub>3</sub> (LCT 50% + AK 50%), P<sub>4</sub> (LCT 75% + AK 25%), P<sub>5</sub> (LCT 100% + AK 0%).

### Pelaksanaan Penelitian

Biakan murni *A. xylinum* dikulturkan dalam medium air kelapa selama 7 hari inkubasi untuk dijadikan sebagai inokulum mikroba starter. Limbah cair tempe dan air kelapa yang masih segar disaring dengan kain kasa untuk memisahkan kotoran yang terkandung di dalamnya. Limbah cair tempe dan air kelapa tersebut kemudian dimasukkan ke dalam panci aluminium sesuai perlakuan yaitu P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, dan P<sub>5</sub> (untuk perlakuan P<sub>0</sub>, air kelapa dan limbah cair tempe diganti air sumur). Selanjutnya dipanaskan diatas kompor sampai mendidih selama kurang lebih 5 menit. Setelah mendidih kemudian dimasukkan gula sebagai sumber karbon sebanyak 10% dan urea sebagai sumber nitrogen sebanyak 0,3%, lalu ditambahkan bahan dasar (Alwi, 2008). Kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya

pHnya diatur dengan menambahkan asam asetat glasial untuk mendapatkan pH yang optimum untuk pertumbuhan bakteri *A. xylinum* yaitu pH 5.

Setelah media fermentasi siap, selanjutnya media dipindahkan ke dalam wadah fermentasi/fermentor dengan ketinggian media  $\frac{2}{3}$  dari tinggi wadah. Didinginkan hingga suhu kamar, kemudian inokulasi mikroba starter sebanyak 10% dari media fermentasi, kemudian ditutup. Kultur diinkubasi selama 15 hari pada kondisi suhu ruang.

Parameter yang diamati adalah saat terbentuknya lapisan nata, ketebalan nata, berat nata, rendemen nata, dan tekstur nata. Kemudian akan dianalisis secara statistik melalui Analisis varian (ANOVA).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### Waktu mulai terbentuknya lapisan Nata

Pengamatan dilakukan setiap hari sejak hari pertama inkubasi hingga hari ke-15. Pembentukan nata ditandai dengan adanya serat-serat selulosa yang terdapat pada dasar media hingga bagian permukaan yang selanjutnya serat-serat ini akan terjalin membentuk lapisan tipis nata yang akan mengapung dipermukaan media. Nata mengapung dipermukaan media akibat dorongan oleh gas CO<sub>2</sub> yang terbentuk bersamaan dengan terbentuknya serat-serat selulosa tersebut.

Nata terbentuk pada semua perlakuan. Pada perlakuan P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, dan P<sub>5</sub> serat selulosa mulai nampak pada hari pertama (24 Jam) fermentasi, sedangkan perlakuan P<sub>0</sub> serat selulosa mulai nampak pada hari ke-2 masa fermentasi. Ketebalan lapisan Nata paling cepat terbentuk pada perlakuan P<sub>2</sub> yaitu pada hari ke-3 masa inkubasi,

diikuti perlakuan P<sub>1</sub>, P<sub>3</sub>, dan P<sub>4</sub> yaitu pada hari ke-4. Sedangkan perlakuan yang paling lambat membentuk lapisan Nata adalah perlakuan P<sub>0</sub> yaitu terjadi pada hari ke-7 dan ke-9 fermentasi.

#### Ketebalan Nata

Serat-serat selulosa yang terbentuk akan terjalin membentuk suatu lapisan transparan yang mengapung dipermukaan media, serat ini akan terus bertambah banyak dan mempengaruhi ketebalan nata. Hasil pengukuran ketebalan nata menunjukkan bahwa perlakuan P<sub>4</sub> dan P<sub>3</sub> mencapai ketebalan tertinggi yaitu 1,04 cm, diikuti P<sub>2</sub> (0,92 cm), P<sub>1</sub> (0,72 cm), P<sub>5</sub> (0,55 cm) dan ketebalan terendah terlihat pada perlakuan P<sub>0</sub> yaitu hanya 0,06 cm.

#### Berat Nata

Berat nata yang diukur adalah berat basah. Berat basah nata dipengaruhi oleh banyaknya serat yang menyusun nata dan molekul air yang terkandung didalamnya. Hasil pengukuran berat basah nata menunjukkan bahwa perlakuan P<sub>4</sub> merupakan berat tertinggi yaitu 139,48 gram dan diikuti oleh P<sub>3</sub> (123,23 cm), P<sub>2</sub> (106,35 cm), P<sub>1</sub> (76,38 cm), P<sub>5</sub> (64,00) dan berat terendah terdapat pada perlakuan P<sub>0</sub> yaitu 6,90 gram.

#### Rendemen Nata

Nilai rendemen Nata diperoleh dari hasil perhitungan berat basah nata dibagi dengan volume awal media fermentasi. Hasil pengukuran rendemen nata menunjukkan bahwa perlakuan P<sub>4</sub> memperlihatkan nilai rendemen tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu 42,27%, diikuti oleh perlakuan P<sub>3</sub> (37,34%), P<sub>2</sub> (32,09%), P<sub>1</sub> (23,14%), P<sub>5</sub> (19,39%), dan nilai rendemen terendah terdapat pada perlakuan P<sub>0</sub> yaitu hanya sebesar 2,09%.

### Tekstur Nata (Uji Organoleptik Kekenyalan)

Pengamatan tekstur nata dititik-beratkan hanya pada pengamatan kekenyalan nata saja. Pengujiannya dengan menggunakan uji organoleptik yaitu kelompok uji penerimaan yang melibatkan penilaian dari sekelompok orang. Tujuan pengujian ini untuk mengetahui tingkat kekenyalan dari nata yang dihasilkan berdasarkan skala penilaian yang telah ditetapkan yaitu 1 (keras), 2 (sedang), 3 (lunak).

Hasil rekapitulasi penilaian panelis terhadap kekenyalan nata menunjukkan bahwa perlakuan  $P_0$  memiliki tekstur yang keras dengan nilai rata-rata 1,4. Perlakuan  $P_2$  dan  $P_4$  memiliki tekstur sedang dengan nilai rata-rata yaitu 1,8 dan 1,7. Sedangkan nata yang bertekstur lunak adalah perlakuan  $P_1$ ,  $P_3$ , dan  $P_5$  dengan nilai rata-rata secara berurutan yaitu 2,6; 2,7; dan 2,4.

### Pembahasan

Aktifitas bakteri *A. xylinum* dapat dilihat dengan adanya serat-serat halus berupa jalinan-jalinan berbentuk benang yang mulai terbentuk pada hari pertama masa inkubasi (24 jam). Selulosa tersebut merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *A. xylinum* pada fase pertumbuhan statis. Serat-serat selulosa ini akan semakin banyak diproduksi seiring dengan semakin panjangnya masa inkubasi. Serat-serat ini akan menuju permukaan media dan membentuk suatu jalinan kompak yang akan mengapung dipermukaan media. Menurut Colvin *et al.*, (1977), terbentuknya pelikel nata mulai dapat dilihat setelah 24 jam inkubasi dan nata dapat terapung karena adanya  $CO_2$  yang dihasilkan oleh *A. xylinum* dari proses fermentasi.

Berdasarkan hasil pengamatan hari terbentuknya nata, terlihat bahwa semua perlakuan menunjukkan kemampuan untuk memproduksi selulosa. Pada perlakuan  $P_2$  membran tipis nata mulai nampak mengapung pada permukaan media pada hari ke-3, diikuti perlakuan  $P_1$ ,  $P_3$ , dan  $P_4$  terjadi pada hari ke-4 inkubasi. Hal ini sesuai dengan Lapuz *et al.*, (1967), tanda awal pertumbuhan bakteri nata pada medium cair yang mengandung sukrosa adalah timbulnya kekeruhan setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 36-48 jam, suatu lapisan tembus cahaya terbentuk dipermukaan medium dan secara bertahap akan menebal membentuk lapisan yang lebih kompak.

Namun untuk perlakuan  $P_5$  membran tipis nata terbentuk pada hari ke-7 dan ke-9 waktu inkubasi. Perlakuan  $P_0$  terbentuk pada hari ke-10. Dengan demikian perlakuan yang paling cepat memproduksi nata adalah perlakuan  $P_2$  yaitu 3 hari setelah inkubasi, dan yang paling lambat membentuk nata adalah perlakuan  $P_0$  yaitu 10 hari inkubasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri pembentuk nata adalah ketersediaan nutrisi seperti sumber karbon, nitrogen dan mineral lain, pH, temperatur, ketersediaan oksigen dan aktifitas bakteri (Pambayun, 2002).

Pada perlakuan  $P_0$  yaitu perlakuan dengan formulasi LCT 0% + AK 0% masih dapat dilihat munculnya serat-serat selulosa. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan sukrosa dan medium dasar yang merupakan sumber karbon dan urea yang merupakan sumber nitrogen, sehingga bakteri tetap dapat melakukan pertumbuhan dan proses fermentasi namun dalam kondisi yang sangat terbatas. Keterbatasan sumber nutrisi ini terlihat dari pertumbuhan bakteri dan pembentukan nata yang sangat lambat dan nata yang dihasilkanpun sangat tipis.

Perlakuan  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$ , dan  $P_4$ , pembentukan nata relatif cepat karena

nutrisi yang terkandung dalam medium fermentasi sesuai untuk pertumbuhan bakteri *A. xylinum* sehingga bakteri pembentuk nata tersebut dapat dengan cepat menyesuaikan diri dan melakukan pertumbuhan. Sedangkan perlakuan yang lambat membentuk nata seperti perlakuan P<sub>5</sub> karena kondisi nutrisi yang kurang sesuai sehingga menghambat pertumbuhan bakteri *A. xylinum* dan tidak cukup efektif untuk mendorong terbentuknya nata dengan cepat.

Perbedaan formulasi substrat mempengaruhi ketersediaan nutrisi bagi sel *A. xylinum*. Ketersediaan nutrisi yang memadai akan mengoptimalkan pertumbuhan bakteri. Nutrisi yang sangat menunjang adalah senyawa sukrosa sebagai sumber karbon, dan senyawa nitrogen. Nutrisi tersebut digunakan untuk memenuhi energi metabolisme selnya dan sebagian lagi diubah menjadi nata (Muchtadi, 1997). Selama proses fermentasi, sukrosa diubah terlebih dahulu menjadi fruktosa dan glukosa dalam kondisi asam. Selanjutnya oleh bakteri *A. xylinum*, glukosa tersebut digabung dengan asam lemak membentuk prekursor nata. Prekursor ini akan diekskresikan dan bersama enzim mengubah glukosa menjadi selulosa diluar sel (Palungkum, 1993).

Menurut Hubeis *et al.*, (1996), lapisan halus transparan yang nampak dipermukaan media fermentasi secara bertahap akan mengalami penebalan dengan membentuk lapisan demi lapisan dibawahnya selama nutrisi ada dalam substrat atau media. Ketebalan ini tercapai pada hari ke-15 dan selama proses pembentukan nata ini, nutrisi dalam medium perlahan-lahan akan menjadi berkurang sehingga akan mengurangi kecepatan penebalan nata.

Selain serat selulosa, ketebalan nata juga dipengaruhi oleh kadar air

yang terkandung di dalamnya. Nata memiliki kandungan air sebesar 98% (Hubis *et al.*, 1996), molekul air dalam medium akan terperangkap dalam nata melalui jaringan mikrofibril yang terbentuk oleh *A. xylinum* (Souisa *et al.*, 2006). Kandungan air ini juga sangat mempengaruhi berat basah nata sehingga seiring dengan peningkatan ketebalan nata maka berat basah nata juga ikut meningkat. Selain itu, hasil pengukuran berat basah nata sangat mempengaruhi pengukuran rendemen. Menurut Kembuan dan Joseph (1990), perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui efisiensi penggunaan substrat fermentasi. Semakin tinggi persentase nilai rendemen, pemanfaatan substrat fermentasi semakin tinggi.

Berdasarkan hasil pengamatan dan hasil pengukuran dari ketebalan, berat, dan rendemen nata menunjukkan pola yang seragam yaitu ketebalan tertinggi terdapat pada perlakuan P<sub>4</sub> yaitu 1,04 cm dan terendah yaitu P<sub>0</sub> yaitu 0,06 cm, begitu pula halnya berat dan rendemen tertinggi juga terdapat pada perlakuan P<sub>4</sub> yaitu 139,48 gram dan 42,27% sedangkan berat dan rendemen terendah terlihat pada perlakuan P<sub>0</sub> yaitu 6,90 gram dan 2,10%. Hal ini memperlihatkan bahwa ketebalan, berat, dan rendemen nata berbanding lurus atau saling mempengaruhi.

Tekstur nata dipengaruhi oleh serat-serat selulosa yang saling terjalin. Semakin tebal nata yang dihasilkan maka kandungan seratnya semakin banyak karena ketebalan nata dipengaruhi oleh kadar seratnya. Perbandingan antara kadar serat dan kekenyalan adalah berbanding lurus, artinya semakin banyak kandungan serat maka semakin kenyal tekstur nata (Hubies *et al.*, 1996). Namun pada penelitian ini terlihat bahwa kekenyalan tidak selamanya berbanding lurus dengan ketebalan.

Berdasarkan hasil uji organoleptik terhadap kekenyalan menunjukkan bahwa

nata yang bertekstur keras terdapat pada perlakuan  $P_0$  dengan rata-rata nilai 1,4. Tekstur nata yang keras ini disebabkan karena nata yang terbentuk sangat tipis sehingga jalinan selulosa lebih rapat dan kandungan airnya lebih sedikit. Nata yang bertekstur sedang terdapat pada perlakuan  $P_2$  dan  $P_4$ , sedangkan nata dengan tekstur yang lunak terdapat pada perlakuan  $P_1$ ,  $P_3$  dan  $P_5$ .

Penurunan kekenyalan dapat disebabkan karena ikatan polisakarida yang terbentuk tidak kompak atau longgar sehingga serat lebih mudah putus, nata yang terbentuk nampak tidak kaku. Serat-serat selulosa yang tidak rapat atau renggang memungkinkan nata lebih tebal dan lebih berat karena molekul air yang terperangkap lebih banyak namun tekstur akan lebih lunak karena serat polisakarida mudah putus. Sedangkan nata yang lebih tipis akan membentuk lapisan polisakarida yang lebih kompak dan kokoh sehingga molekul air yang terkandung lebih sedikit dan menyebabkan berat nata lebih rendah dengan tekstur yang jauh lebih keras.

Penelitian ini memperlihatkan bahwa limbah cair tempe yang diformulasikan bersama air kelapa berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai media produksi Nata De Soyacoco dengan hasil produksi lebih baik dibandingkan penggunaan air kelapa 100%. Hal ini berdasarkan pengamatan tentang kecepatan pembentukan nata, ketebalan, berat basah, rendemen, dan uji organoleptik kekenyalan.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat ditarik kesimpulan yaitu Formulasi yang paling baik untuk pembentukan nata adalah perlakuan  $P_4$  yaitu LCT 75% + AK 25%, sehingga kualitas nata yang

terbaik ditunjukkan oleh perlakuan  $P_4$  berdasarkan hasil pengamatan ketebalan 1.04 cm, berat 139,48 gram, rendemen 42,27%, dan penilaian kekenyalan yaitu 1,7 (kenyalan sedang).

## DAFTAR PUSTAKA

- Alwi, M. 2008, *Pemanfaatan limbah Fermentasi Biji Kakao (Theobroma Cacao L.) untuk Produksi Nata*, Jurnal Biocелеbes, vol 2 No.1.
- BKPM, 2010, *Komoditi Kelapa Sulawesi Tengah*, (<http://regionalinvestment.bkpm.go.id/newsipid/id/commodityare.a.php?ia=72&ic=53>), diakses tanggal 20 maret 2012.
- Colvin, J.R., Sowden, and Leppard, 1977, *The structure of cellulose producing bacteria A. xylinum and A. aceti*, J.Microbiol, 23:790-797.
- Hubis, M.E., Arsatmojo, dan Suliantri., 1996, *Formulasi Pembuatan Nata De Pina*, Buletin Teknologi dan Industri Pangan, 2 (4) : 32-39.
- Kembuan, H.J., dan Joseph., 1990, *Rendemen Nata De Coco dari berbagai Kultivar Kelapa*, Buletin Balitka 11 : 56-58.
- Lapuz, M.M., Gallardo, E.G., and Palo, 1967, *The Nata organism-cultural requirements, characteristics and identify*, The Philippine Journal of Science, 96 (2) : 91-107.
- Muchtadi, T.R., 1997, *Nata de Pina*, Media Komunikasi dan Informasi dan Komunikasi Pangan, 9 (33) : 39-44.
- Palungkun, R., 1993, *Aneka Produk Olahan Kelapa*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Pambayun, R., 2002, *Teknologi Pengolahan Nata de Coco*, Kanisius, Yogyakarta.

- Souisa, G.M., Sidharta, B.R., dan Pranata, F.S., 2006, *Pengaruh Acetobacter xylinum dan Ekstrak Kacang Hijau (Phaseolus radiatus L.) terhadap produksi Nata dari Substrat Limbah Cair Tahu*, Biota, Vol. XI (1) : 27-33.
- Sugiharto, 1994, *Dasar-dasar Pengolahan air Limbah*, Universitas Indonesia, Jakarta.